

シンテッポウユリ (Lilium × formolongi hort.) 種子の高温による発芽不揃いの原因

誌名	園芸学研究
ISSN	13472658
著者名	松本,和浩 中田,昇 鷹見,敏彦 田村,文男
発行元	園芸学会
巻/号	9巻4号
掲載ページ	p. 427-431
発行年月	2010年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



シンテッポウユリ (*Lilium × formolongi hort.*) 種子の高温による発芽不揃いの原因松本和浩¹・中田 昇²・鷹見敏彦³・田村文男^{2*}¹弘前大学農学生命科学部附属生物共生教育研究センター藤崎農場 038-3802 南津軽郡藤崎町藤崎字下袋²鳥取大学農学部 680-8553 鳥取市湖山町南³鳥取県立農業大学校 682-0402 倉吉市関金町大鳥居Causes of Sprout Unevenness in *Lilium × formolongi hort.* Seeds under High TemperatureKazuhiro Matsumoto¹, Noboru Nakata², Toshihiko Takami³ and Fumio Tamura^{2*}¹Fujisaki Farm, Teaching and Research Center for Bio-coexistence, Faculty of Agriculture and Life Science, Hirosaki University, Fujisaki, Aomori 038-3802²Faculty of Agriculture, Tottori University, Koyama, Tottori 680-8553³Tottori Prefectural College of Agriculture, Kurayoshi, Tottori 682-0402

Abstract

We examined the physiological factors causing reduction of seed germination under a high temperature of 24°C in *Lilium × formolongi hort.* High temperature inhibited the saccharification of storage starch to glucose in the seed during germination with a reduction of α -amylase activity. Ethylene production and abscisic acid (ABA) concentration in the seed increased under a high temperature condition. Ethylene inhibitor, STS (Silver thiosulfate complex) and 1-MCP (1-methylcyclopropene), and wing removal treatments recovered the germination reduction at a high temperature. Furthermore, 1-MCP treatment during seeding in the soil was also effective in that recovering of germination reduction at a high temperature. We concluded a decrease in α -amylase activity with increases in ABA and ethylene is related to the inhibition of seed germination under high temperature in *Lilium × formolongi hort.*

Key Words : abscisic acid, α -amylase, ethylene, germination rate

キーワード : アブシジン酸, α -アミラーゼ, エチレン, 発芽率

緒言

シンテッポウユリ (*Lilium × formolongi hort.*) は、播種後 7～8 か月で開花するため、種苗コストの低減を目的に実生栽培が一般化してきた (渡辺, 1995)。しかし、発芽不良や発芽の不揃いに起因する育苗の不安定さが問題となっている (鷹見ら, 2007)。これまでの研究により、高温がシンテッポウユリ種子の発芽不揃いの一因となっていることが示唆されている (Roh・Yong, 1996; 鷹見ら, 2007; 渡辺, 1995)。しかし、種子の発芽特性に関する研究は極めて少なく、発芽不揃いの生理学的なメカニズムについては全く明らかになっていない。

一般に、種子の発芽は吸水から幼根の伸長開始に至る過程を指し、ほとんど代謝活性を示さない乾燥状態の種子が、高い代謝活性を示す成長状態に大きく変化することを意味する (山口・松倉, 2004)。この間に貯蔵物質の加水分解や各種植物ホルモンの変化など様々な生理学的な変化が起こり、この変化の差異が発芽に影響を及ぼすものと考えられる。

前報 (鷹見ら, 2009) では、シンテッポウユリ種子の翼に着目し、翼除去処理を行うことにより発芽が促進されることを示した。また、その原因は種皮に間隙ができることにより吸水が促進されること、および翼に存在する発芽抑制物質の量が減少することにあると考えられた。さらに、アブシジン酸 (ABA) 処理は発芽を抑制したが、ジベレリン (GA₃) 処理は発芽に影響を及ぼさなかった。これらのことから、吸水に伴う種子内の代謝の活性化と内生 ABA 含量の変化が、シンテッポウユリの発芽に大きく影響していることが示唆された。

そこで、本研究ではシンテッポウユリの高温時の発芽不揃いのメカニズムを明らかにし、安定した発芽を得る目的で発芽温度の違いが発芽時の種子のデンプン、グルコース、スクロースおよび ABA 含量に及ぼす影響並びにエチレン生成量の変化を調査した。

材料および方法

実験にはいずれも '雷山 2 号' (ムラカミシード) を用いた。実験 1 および 4 における種子の発芽は、種子 20 粒を No. 2 ろ紙を敷き蒸留水を注入した 9 cm のプラスチックシャーレ内に播種して行った。実験 2, 3 および 5 における

種子の発芽は、種子 100 粒を No. 2 ろ紙を敷き蒸留水を注入した 120 mL 容の密閉容器に播種して行った。いずれも、播種後、18 または 24°C のインキュベーター内に静置した。

1. 発芽温度が種子吸水初期のデンプン、グルコースおよびスクロース含量に及ぼす影響 (実験 1)

実験は 2 シャーレ (40 粒) を 1 反復とし、3 反復で行い、播種後 4 日目まで毎日各温度処理区から 6 シャーレを取り出し、デンプン、グルコースおよびスクロースの分析に供試した。

糖組成の分析は松本ら (2008) の方法に準じ以下の方法で行った。すなわち、種子 40 粒を 80% エタノール中で磨砕し、100°C に 30 分間静置した後、遠心分離し上清を採取した。残渣を再び 80% エタノール中で攪拌した後、遠心分離し、得られた上清を前述の上清と合わせてガラス繊維ろ紙 (GF/C, Whatman, Middlesex, England) でろ過した。ろ液はロータリーエバポレーターを用いて濃縮し 1.5 mL に定容した。この溶液を用いて糖組成を高速液体クロマトグラフ (LC10ADVP, 島津製作所) を用い、移動相: 高速液体クロマトグラフ用蒸留水 (流量: 1 mL・min⁻¹)、カラム: Shodex SUGAR SC1011 (昭和電工), RI 検出器: L-7490 (日立製作所) で分析した (n=3)。

デンプン含量の測定は、大崎 (1990) の方法を用いて行った。すなわち、糖抽出残渣を 8.14 N 過塩素酸中で分解し、得られた溶液の糖含量をアントロン法にて測定した。

2. 発芽温度が種子吸水初期の α -アミラーゼ活性に及ぼす影響 (実験 2)

播種後 2 日目に全種子を採取し、粗酵素液の抽出と α -アミラーゼ活性の測定を行った。種子 0.5 g を 3 mM CaCl₂ およびポリビニルピロリドンを含む 0.2 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.4) 中で磨砕し、遠心分離により得られた上清を粗酵素液とした。活性測定は平沢 (1991) の方法に従い着色不溶性デンプン法で行った。実験は 1 区 3 反復とした。

3. 発芽温度が種子吸水初期のエチレン生成量に及ぼす影響 (実験 3)

播種後 3 日目まで、各容器のヘッドガスを採取し、エチレン濃度を Franco-Mora ら (2005) の方法に従い、水素炎イオン化検出器 (FID) を装備したガスクロマトグラフで測定した。実験は 1 区 3 反復とした。

4. エチレン、1-メチルシクロプロペン (1-MCP) およびチオ硫酸銀錯塩 (STS) 処理が種子発芽に及ぼす影響 (実験 4)

すべての処理は、ふたの開いたシャーレを 1,500 mL 容の密閉容器に入れて行った。エチレン処理は密閉容器内のエチレン濃度が 1, 10 または 100 ppm になるようにエチレンガスを注入して行った。1-MCP 処理は EthylBloc[®] (Rohm and Haas, USA) を使用し、密閉容器内の 1-MCP 濃度が 10 ppm になるように調製した。STS 処理は播種時に蒸留水の代わりに 1 mM の STS 3 mL をシャーレに注入した。エチレン、1-MCP および STS 処理は播種後 3 日間行い、その

後はシャーレを密閉容器から取り出してふたをし、発芽まで適宜、蒸留水を補給しながら発芽率を観察した。翼の端から 1 mm 以上の発根を確認した時点で発芽と判断した。実験は 1 区 3 反復とした。

5. 発芽温度および翼除去処理が種子吸水初期のアブジシン酸 (ABA) 含量に及ぼす影響 (実験 5)

半数の種子の翼を鷹見ら (2009) の方法により除去し、播種後 2, 5 および 8 日目の種子中の ABA 含量を測定した。ABA は 80% メタノールで抽出し、溶媒分画後、C18 カラムによって精製した。さらに精製試料 200 μ L を HPLC (L7100, 日立製作所) によって分画した。HPLC の移動相としてアセトニトリル/水を流速 1.0 mL・min⁻¹ で以下のような設定で用いた。0~5 分後: アセトニトリル/水 = 20/80, 5~35 分後: アセトニトリル/水 = 20/80 ~ 70/30 の濃度勾配。カラムは SISEIDO (CAPCELL PAK C18, 6 \times 250 mm) を用い、カラム温度 45°C とした。標品試料によりあらかじめ ABA のリテンションタイムを決定し、その分画を回収、濃縮し、ジアゾメタンでメチル化し、ガスクロマトグラフ (GC8A 検出器 ECD, 島津製作所) によって分析した。実験は 1 区 3 反復とした。

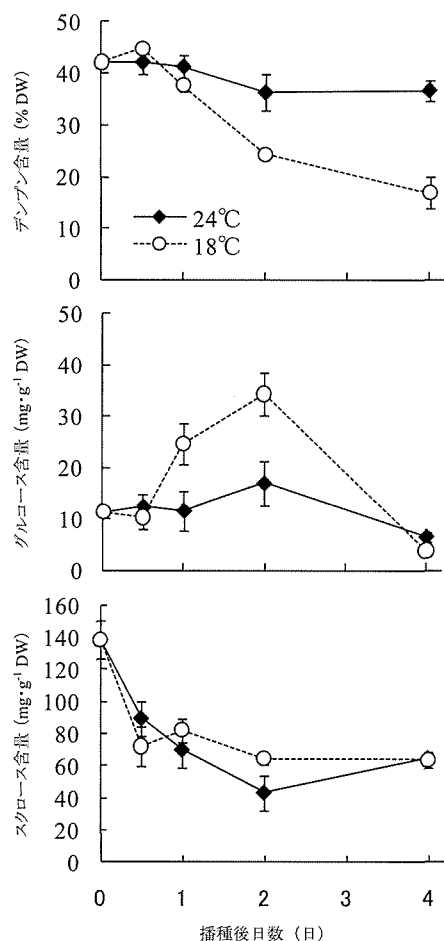
6. セルトレイに播種した種子への 1-MCP 処理が種子発芽に及ぼす影響 (実験 6)

48 穴のセルトレイ (各 17 mL 容) に培養土 (プライムミックス TKS-1: pH 5.0 ~ 6.0, 有機物質 95% 以上, N: 100 ~ 140 mg・L⁻¹, P: 80 ~ 120 mg・L⁻¹, K: 130 ~ 190 mg・L⁻¹, サカタのタネ) を充填し、十分に吸水させた。培養土上に翼を除去した種子または除去しない種子を播種し、5 mm の覆土を行った後、ミストで十分に灌水した。セルトレイを密閉容器に封入し、1-MCP 処理は EthylBloc[®] を使用し、容器内の 1-MCP 濃度が 10 ppm になるように調製した。対照区は大気を封入した。密閉容器は 18 または 24°C に設定したインキュベーター内に静置した。播種 3 日目、いずれの密閉容器も開封し、新たに大気を封入し、発芽率の推移を継続して調査した。実験はセル中央部の 20 穴に播種した種子を用い、反復は 4 とした。

結果および考察

これまでの研究で明らかであるように、シンテッポウユリの種子発芽の適温は 18°C 前後であり、24°C では発芽不揃いが発生する (鷹見ら, 2007, 2009)。そこで、各温度における発芽時に起こる種子内の生理的な変化を調査した。

まず、発芽温度が種子吸水初期のグルコース、スクロースおよびデンプン含量に及ぼす影響を調査したところ、播種後 4 日間のデンプン含量の低下は、24°C ではわずかであったが、18°C では 24°C に比べ大きく低下した。スクロース含量は温度にかかわらず播種直後に著しく低下したものの、その後の低下は緩やかか、ほぼ横ばいで、大きな変化はみられなかった。グルコース含量は 24°C の場合、ほぼ横ばいで大きな変化がみられなかったのに対し、18°C では



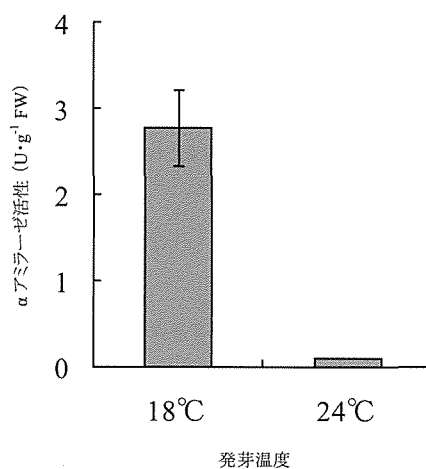
第1図 発芽温度がシンテッポウユリ‘雷山2号’の種子吸水初期のデンプン、グルコースおよびスクロース含量に及ぼす影響
図中の縦線は標準誤差 (n=3)

播種後1～2日目に著しい増加がみられ、その後減少した(第1図)。このように、24°Cでは18°Cに比べデンプンの分解が進まず、グルコース含量の増加が起こらないことが明らかになった。

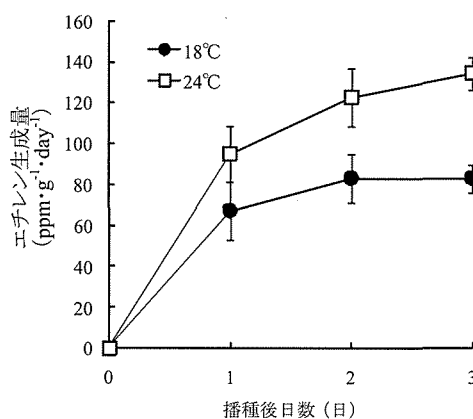
また、播種後2日目のデンプンの加水分解酵素、 α -アミラーゼの活性をみると、18°Cでは活性がみられるものの、24°Cではほとんど活性がみられないことが明らかとなった(第2図)。

平沢(1991)はエンドウにおいて α -アミラーゼの活性誘導は植物ホルモンであるエチレンやABAによって阻害されることを報告している。そこで、発芽温度が種子吸水初期のエチレン生成量に及ぼす影響を調査した。その結果、種子のエチレン生成量は温度にかかわらず播種後に急激に増加したが、播種後1日目以降のエチレン生成量およびその増加量は24°Cが18°Cと比べ多かった(第3図)。つまり、発芽不良が起こる24°Cでは発芽適温である18°Cに比べエチレン生成量が多いことが明らかになった。

続いて、エチレン、1-MCPおよびSTS処理が種子発芽に及ぼす影響を調査した。18°Cにおけるエチレン1ppm処理



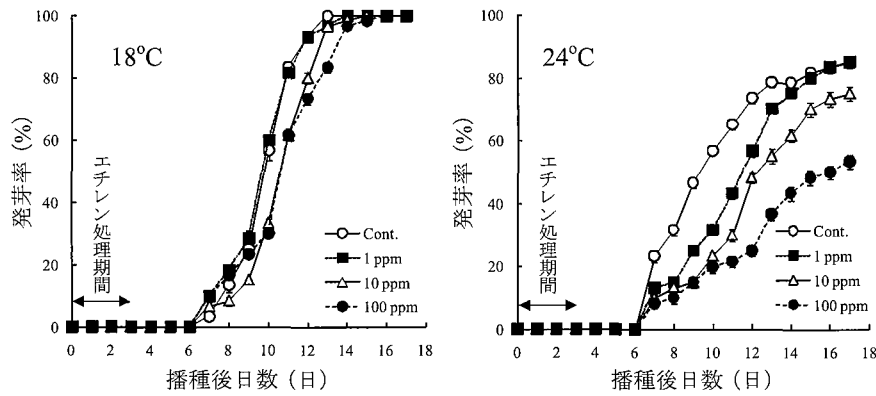
第2図 発芽温度がシンテッポウユリ‘雷山2号’の播種後2日目の α -アミラーゼ活性に及ぼす影響
図中の縦線は標準誤差 (n=3)



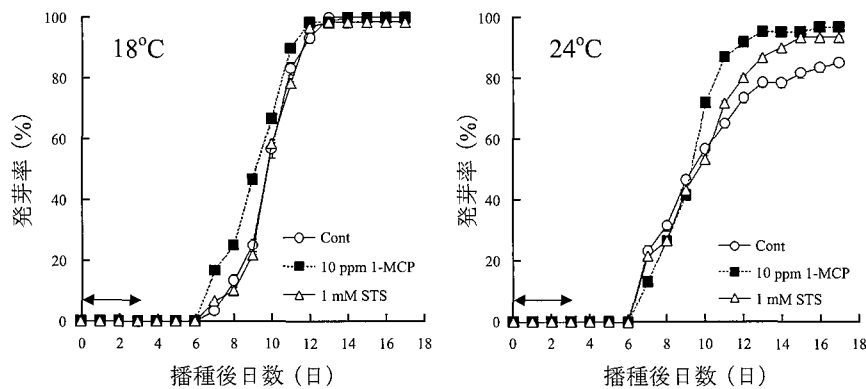
第3図 発芽温度がシンテッポウユリ‘雷山2号’の種子吸水初期のエチレン生成量に及ぼす影響
図中の縦線は標準誤差 (n=3)

は発芽に影響を及ぼさなかったが、10および100ppm処理は発芽を抑制した。エチレン処理終了後から発芽率80%に到達するまでの日数を比較すると、対照区は7日、エチレン10ppm処理区は8日、100ppm処理区は9日であった。一方、24°Cでは、処理したエチレン濃度の上昇に伴い、いずれの処理区でも発芽が抑制され、最終発芽率も低下した(第4図)。このように、種子発芽時にエチレンを処理した場合、発芽温度にかかわらず発芽が抑制されたが、特に24°Cでは発芽の遅延と不揃いが顕著であった。

1-MCP処理およびSTS処理の影響をみると、18°Cでは10ppmの1-MCP処理により発芽が促進されたが、STS処理の効果は認められなかった。一方、24°Cでは、18°Cに比べ対照区の発芽率が低下したが、1-MCP処理区は18°Cとほぼ同様の発芽の推移を示した。また、STS処理も対照区に比べ発芽が促進された(第5図)。つまり、エチレンの受容体阻害剤である1-MCPやSTSを処理した場合、特に24°C区で発芽率の向上と発芽不揃いの改善がみられた。こ



第4図 発芽温度およびエチレン処理がシンテッポウユリ‘雷山2号’の発芽率に及ぼす影響
 図中の縦線は標準誤差 (n=3)

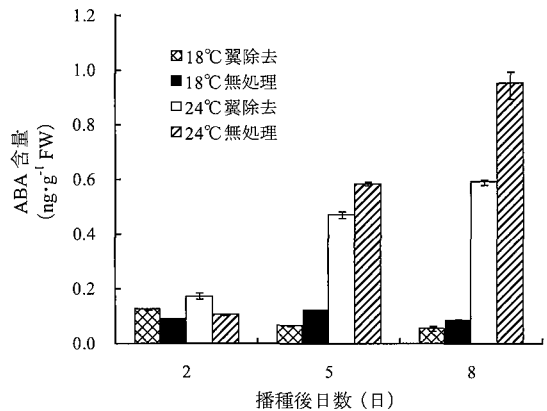


第5図 発芽温度、1-MCP および STS 処理がシンテッポウユリ‘雷山2号’の発芽率に及ぼす影響
 図中の縦線は標準誤差 (n=3)
 矢印で示した期間は、1-MCP 処理または STS 処理を行った期間を示す

これらの結果は、高温時におけるシンテッポウユリの発芽抑制にエチレンが関与していることを強く示唆するものである。

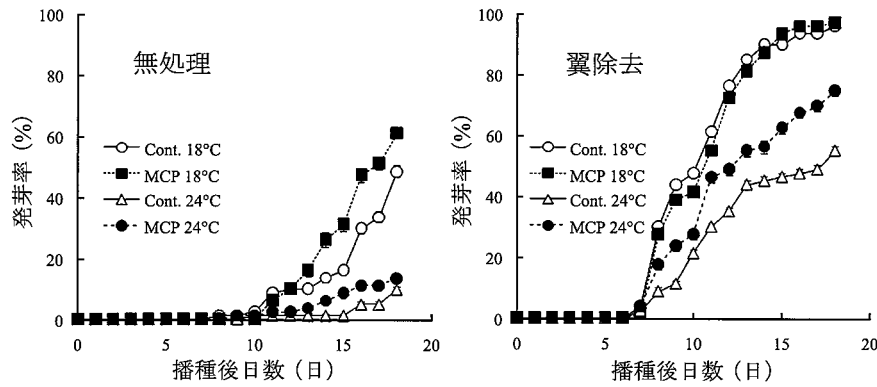
また、発芽抑制と ABA の関係についてみると、前報において鷹見ら (2009) は、シンテッポウユリの種子の翼除去処理が発芽率の改善に有効であることを示し、翼中に含まれる ABA と考えられる発芽抑制物質が発芽抑制に強く関与していることを示唆した。本実験ではさらに、発芽温度および翼除去処理が種子吸水初期の ABA 含量に及ぼす影響を調査した。その結果、18°C では翼の有無にかかわらず、ABA 含量の増加はみられなかった。一方、24°C では播種後 5 日目以降、ABA 含量が増加し、その増加量は翼除去種子に比べ翼を除去しない種子で顕著であった(第6図)。これは、発芽不揃いが起こる高温域では種子内の発芽阻害物質の含量が劇的に増加することを示しており、高温時の発芽不良の大きな要因のひとつであると考えられた。

これらを踏まえて、栽培現場での高温時の発芽不揃いの問題の解消を目的に、翼除去処理とともにセルトレイに播種した種子への 1-MCP 処理を行い、種子発芽に及ぼす影響を調査した。その結果、翼を除去しない種子の発芽率は翼除去種子に比べ劣った。また、翼を除去しない種子の発芽



第6図 発芽温度および翼除去処理がシンテッポウユリ‘雷山2号’の種子吸水初期の ABA 含量に及ぼす影響
 図中の縦線は標準誤差 (n=3)

率は 1-MCP 処理によりいずれの温度処理区でも上昇した。一方、翼除去種子に対する 1-MCP 処理は、18°C では影響を及ぼさなかったが、24°C では発芽率を向上させた(第7図)。このように、翼除去処理とともに 1-MCP 処理を行うことで高温時の発芽不揃いに対する改善効果がみられた。



第7図 セルトレイへ播種した種子への1-MCP処理がシンテッポウユリ‘雷山2号’の無処理および翼除去種子の発芽率に及ぼす影響

図中の縦線は標準誤差 (n=4)

今後はこれらの方法にさらに改良を加え、経営的観点からも経済栽培の現場で応用可能な発芽不揃いを改善する実用的な方法を開発する必要があると考えられた。

以上のようにシンテッポウユリの高温時に発生する発芽不揃いは、高温により種子のエチレン生成量と発芽阻害物質であるABA含量が増加すること、さらには α -アミラーゼ活性の低下によりデンプンの加水分解が抑制され、グルコース含量が減少することによって発生していると推察された。

摘要

シンテッポウユリの高温時(24°C)に発生する発芽不揃いの原因を調査した。高温により α -アミラーゼ活性が阻害され貯蔵デンプンの加水分解とグルコース含量の増加が抑制された。また、種子のエチレン生成量が増加し、発芽阻害物質であるABA含量の上昇もみられた。エチレンの作用阻害剤(STSおよび1-MCP)処理および翼除去処理は高温時の発芽不揃いの改善に有効であった。さらに、1-MCP処理はセルトレイに播種した種子の高温時における発芽率の向上にも有効であった。これらの結果から、高温時に発生する発芽不揃いは高温により種子のエチレン生成量と発芽阻害物質であるABA含量が増加すること、さらには α -アミラーゼ活性の低下によりデンプンの加水分解が抑制され、グルコース含量が減少することによって発生していると推察された。

引用文献

Franco-Mora, O., K. Tanabe, A. Itai, F. Tamura and H. Itamura.

2005. Relationship between endogenous free polyamine content and ethylene evolution during fruit growth and ripening of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 74: 221-227.

平沢栄次. 1991. 酵素: α -アミラーゼの誘導. p. 84-87. 増田芳雄編. 植物ホルモン研究法. 学会出版センター. 東京.

松本和浩・李忠峴・千種弼・金泰日・田村文男・田辺賢二・黄龍洙. 2008. 韓国産イチゴ新品種の特性と貯蔵性の品種間差異. 園学研. 7: 293-297.

大崎満. 1990. 植物体有機成分の粗分画と定量. p. 204-216. 植物栄養実験法編集委員会編. 植物栄養実験法. 博友社. 東京.

Roh, M. S. and G. S. Yong. 1996. Seed germination of *Lilium* \times *formolongi* as influenced by temperature and plant growth regulators. Acta Hort. 414: 243-250.

鷹見敏彦・松本和浩・中田昇・田村文男. 2009. シンテッポウユリ (*Lilium* \times *formolongi* hort.) の種子発芽に及ぼす翼除去の影響. 園学研. 8: 433-437.

鷹見敏彦・田村文男・大橋章子・中田昇. 2007. シンテッポウユリ (*Lilium* \times *formolongi* hort.) の種子発芽に及ぼす温度および光条件の影響. 園学研. 6: 37-41.

渡辺寛之. 1995. シンテッポウユリ. 栽培の基礎. p. 503-507. 農業技術体系花卉編10. 農文協. 東京.

山口淳二・松倉千昭. 2004. 発芽. p. 686-691. 山崎耕宇・久保祐雄・西尾敏彦・石原邦監修. 新編農学大事典. 養賢堂. 東京.